

法政大学学術機関リポジトリ
HOSEI UNIVERSITY REPOSITORY

多電極アレイを使用した新たなリポソーム作製法の開発

著者	秋月 勇人
出版者	法政大学大学院理工学・工学研究科
雑誌名	法政大学大学院紀要. 理工学・工学研究科編
巻	58
発行年	2017-03-31
URL	http://hdl.handle.net/10114/13727

多電極アレイを使用した新たなリポソーム作製法の開発

DEVELOPMENT OF NOVEL LIPOSOME PREPARATION METHOD USING MULTI ELECTRODE ARRAY

秋月 勇人

Hayato AKIZUKI

指導教員 金子智行

法政大学大学院理工学研究科生命機能学専攻修士課程

Liposomes are artificial vesicles made by lipid bilayer and are used in study as a model for biological membranes *in vitro*. In terms of the aim of creating artificial cells from liposomes, making giant liposomes in the cell size is critical. In this study, I applied lipids on multi electrode array (MEA) and in agarose on MEA, and tried to prepare the liposomes by electro formation methods and gentle hydration methods. As a result, it was observed giant multilamellar liposomes were more and rapidly formed on MEA, but this formation might not be the effect of electrical stimulation. In ionic solution, it was observed a few liposomes in agarose on MEA. In the future, I would like to establish the method to form giant liposomes in ionic solution.

Key Words : giant liposomes, multi electrode array, agarose, ionic solution

1. 緒言

リポソームとは脂質二重膜でできた小胞である。細胞膜の主成分は脂質であるため、リポソームは細胞・細胞膜のモデルとして研究に用いられている。リポソーム内に細胞を構成する物質を封入して人工細胞をつくる研究では、細胞サイズ（数十 μm スケール）のリポソームを作製することが重要である。本研究では、多電極アレイ (MEA) への交流電圧の印加やアガロースの添加を行い、巨大リポソームの作製や、塩溶液中でのリポソームの作製を試みた。

2. 実験方法

(1) MEA への電圧の印加

電極上に脂質を塗布した MEA を MEA システムの装置に取り付け (図 1)、MEA 内に水和液を注入した後、すみやかに交流電圧を印加することでエレクトロフォーメーション法[1]によってリポソームを作製した。

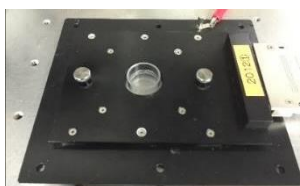


図 1 MEA と MEA システム

(2) MEA へのアガロースの添加

プラズマ処理を施した MEA 上にアガロースを添加し (図 2)、アガロース上に脂質を塗布して乾燥させた後、MEA 内に水和液を注入し静置水和法[2]によってリポソームを作製した。

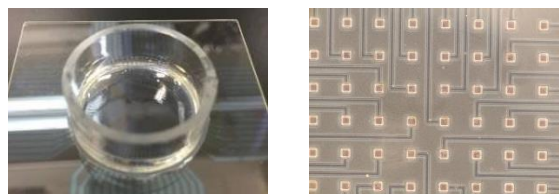


図 2 アガロースを添加した MEA

電圧印加および水和して一定時間経過後、リポソーム溶液を採取し暗視野顕微鏡で観察を行った。

3. 結果と考察

(1) MEA を用いたエレクトロフォーメーション法によるリポソームの作製

電圧、周波数、水和液、時間、温度の条件を変えて、エレクトロフォーメーション法によりリポソームの作製を行った。その結果、純水やスクロース溶液で水和した場合に、短時間で多量の巨大リポソームや多層リポソーム

ム、リポソーム内封リポソームが形成された(図3上)。一方、塩溶液で水和した場合には、リポソームの形成がほとんど見られなかった(図3下)。

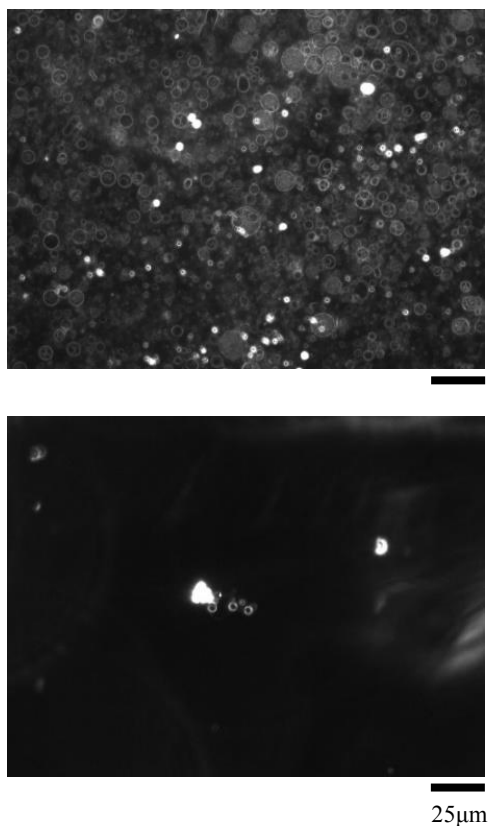


図3 純水(上)とPBS(-)(下)で水和し1V10Hzの電圧を印加して作製したリポソームの暗視野像

しかしその後、MEA上で電圧を印加せずに静置水和法で作製した場合や、MEA底面と同様に脂質塗布部分が平面であるカバーガラスを用いて静置水和法で作製した場合に、巨大リポソームや多層リポソームの形成がみられたため、これらの特徴的なリポソームの形成は電圧印加によるものではなく、平面上で静置水和したことが原因であると考えられる。

(2) アガロース上での静置水和法によるリポソームの作製

一般に塩溶液中ではリポソームが形成しにくいですが、スライドガラスをアガロースに浸してコートする手法を用いた静置水和法では、PBS(-)による水和でリポソームができることが明らかになっている[3]。そこで、アガロース濃度、アガロース量、水和液、時間、温度の条件を変えて、アガロースを添加したMEA上での静置水和法によりリポソームの作製を行った。その結果、PBS(-)で水和した場合に、アガロース上で水和するとリポソームが形成された(図4)。

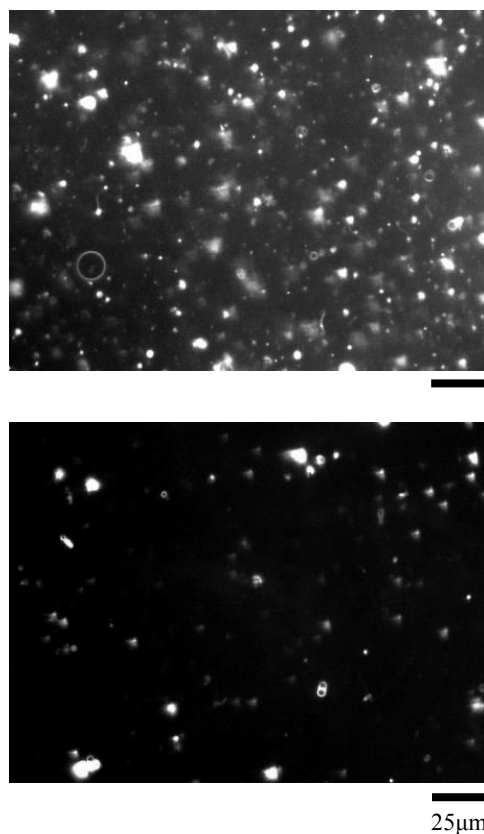


図4 2.5%アガロース添加(上)とアガロース無し(下)のMEAを、PBS(-)で水和して作製したリポソームの暗視野像

4. 結言

本研究により、MEAを用いることで純水や糖溶液中での巨大リポソームの形成が可能であることや、MEAにアガロースを添加することで塩溶液中でのリポソーム形成が可能であることが示唆された。今後は手法に改良を重ね、塩溶液中で巨大リポソームを形成する手法を確立したい。

謝辞：本研究は金子智行教授のご指導を始め、貴重なご意見を頂いた東京医科歯科大学の野村典正准教授、東京大学の豊田太郎准教授、MEAシステムを提供して頂いた早稲田大学の安田賢二教授のご協力のもとで行われました。深く感謝を申し上げます。

参考文献

- 1) Miglena I. Angelova *et al.* (1986) *Faraday Discuss. Chem. Soc.* **81**: 303-311
- 2) Alec D. Bangham *et al.* (1974) *Methods in Membrane Biology* **1**: 1-68
- 3) Kim S. Horger *et al.* (2009) *J Am Chem. Soc.* **131**(5): 1810-1819